

Lóbab *Rhizobium* törzsek talajfungicid-érzékenysége

¹ H. E.A. F. BAYOUMI HAMUDA, ² BALÁZSY SÁNDOR, ³ KECSKÉS MIHÁLY,
³ VÁRADY GYÖRGY, ³ KISS ZITA és ³ KUCSMA NÓRA

¹ MTA Környezetvédelmi Mikrobiológiai Tanszéki Kutatócsoport, Gödöllő

² Bessenyei György Tanárképző Főiskola, Nyíregyháza és

³ Gödöllői Agrártudományi Egyetem, Mikrobiológiai Tanszék

A modern mezőgazdasági kultúrákban alkalmazott fungicidok a "non target" mikroorganizmusokra gyakorolt káros hatásainak eliminálásával a termesztett növények terméshozamát is fokozhatják. E növények és fungicidok kölcsönhatásával számolni kell ugyanúgy, mint a hüvelyes növényekkel szimbiózisban élő rhizobiumok és fungicidok gyakran káros kölcsönhatásával is. Ismert a rhizobiumok számos fungiciddel szemben mutatott érzékenysége (KECSKÉS & VINCENT, 1969; AFIFI et al., 1969; FAWAZ et al., 1972; CURLEY & BURTON, 1975; FISHER, 1976; STAPHORST & STRIJDOM, 1976; BAYOUMI HAMUDA, 1987, 1992; BAYOUMI HAMUDA et al., 1988). Néhány fungicid kevésbé toxikus, illetve a rhizobiumok képesek tolerálni bizonyos fungicidok hatásait (KECSKÉS & VINCENT, 1969; VINCENT, 1974; FISHER, 1976; ODEYEMI & ALEXANDER, 1977; HEINONEN-TANSKI & TURKKI, 1987). A környezeti tényezők, az alkalmazott vizsgálati módszerek, különböző talajtípusok és egyéb faktorok a fungicidok toxikusságát szintén befolyásolják. DIATLOFF (1970a, b) a talajok és a fungicidok közötti kompatibilitást tanulmányozva utal a környezeti faktorok és a gombaölő szerek közötti kölcsönhatásokra. HEINON-TANSKI & TURRKI (1987) tíz fungicid hatását vizsgálta *R. leguminosarum* törzsekkel szemben *in vitro*. NIRMAL és munkatársai (1977) véleménye szerint a magcsávázásra használt fungicidok a *Rhizobium* törzsek populációját szignifikánsan csökkentik. *In vitro* körülmények között a fungicidok *Rhizobium* törzsek szaporodására gyakorolt hatását agar (KECSKÉS, 1970) vagy folyékony kultúrákban (FAIZAH et al., 1980; BAYOUMI HAMUDA, 1987, 1992; BAYOUMI HAMUDA et al., 1988) egyaránt tanulmányozták. Vizsgálataink a legjobb N_2 -fixáló képességgel rendelkező *R. leguminosarum* törzsek kiválasztására, a fungicid-toleráns rhizobiumok szelektálására irányultak. A sikeres rhizobium-invázió a légköri N_2 -fixáció mértékének növelése, valamint az adott talajtípusban használt fungicidokkal szembeni toleráns törzsek szelekciója nemcsak elméleti, de a mezőgazdasági termelés szempontjából is fontosnak tekinthető.

1. táblázat
In vitro alkalmazott fungicidek

Fungicidek	Hatóanyagok	Hatóanyag-tartalom, %	Hatóanyagok kémiai elnevezése
Actidion	cikloheximid	20	cikloheximid
Agrocit	benomil	50	1-butylkarbamoil-benzimidazol-2-metilkarbamát
Baytan F	triadimenol+ fuberidazol	15	1-(4-kló-fenoxi)-3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-butanol
Benlate	benomil	2	2-(2-furil)-benimidazol
Brassicol	PCNB	50	1-butylkarbamoil-benzimidazol-2-metilkarbamát
Buvidide K	kaptán	50	1,2,3,4,5-pentaklór-nitrobenzol
Captan 50 W	kaptán	50	N-triklór-metiltio-tetrahidro-ftálimid
Cober	fenpropimorf	50	N-triklór-metiltio-tetrahidro-ftálimid
Cobox 50 WP	rézoxiklorid	750 g/l	4-/3-(4-(1,1-dimetil-etil)-2-metil-propil-2,6-cisz-dimetilmorfolin
Dithane FL	mankoeb	50	rézoxiklorid
Dithane DG	mankoeb	455 g/l	(mangán+cink)-etilén-bisz-ditiokarbamat
Dithane M-45	mankoeb	75	(mangán+cink)-etilén-bisz-ditiokarbamat
Ipam	metam	80	(mangán+cink)-etilén-bisz-ditiokarbamat
Kolfug 25 WP	karbendazim	40	metil-ditiokarbamat
Maneb-80	maneb	25	2-(metoxi-karbnil-amino)-benzimidazol
Mikál 75 WP	efozit-Al + folpet	80	mangán-etilén-bisz-ditiokarbamat
	mikozol	50	aluminium-trisz(0-etil-hidrogén-foszfónát)
Mycozol	kaptán	25	N-(triklór-metil-tio)-ftálimid
Orthocide 50 WP	folpet	40	2-(iazol-4-il)benzimidazol
Ortho-phaltan FL	Hg-tartalmú oxycarboxin	50	N-triklór-metiltio-tetrahidro-ftálimid
Panogen @	vinklozolin	450 g/l	N-(triklór-metil-tio)-ftálimid
Plantvax 75 WP	kloroneb	1,5/2,5	(higanyval ekvivalens) metoxi-etil-higany-acetát
Ronilan FL	tiuram	75	5,6-dihidro-2-N-fenil-1,4-oxatin-3-karboxamid-4,4-dioxid
Terreneb	tiuram	500 g/l	3-(3,5-diklór-fenil)-5-metil-vinil-1,3-oxazolidin-2,4-dion
Thiram	tiuram	50	1,4-diklór-2,5-dimetiloxibenzen
Zineb-80	tiuram	80	bisz-(dimetiltiokarbamat)-diszulfid
	tiuram	80	cink-etián-bisz-ditiokarbamat

Anyag és módszer

Fungicidek: 25 fungicid hatását (1. táblázat) tanulmányoztuk agar és folyékony kultúrákban. A fungicidek steril vizes oldatának 0; 0,1; 1,0; 10,0 és 100,0 mg aktív hatóanyag/l végkoncentrációit alkalmaztuk. A kísérletben használt négy *Rhizobium* törzs gazdanövénye *Vicia faba* volt: 1. HB-3841 (Líbia), 2. Lóbab-Z (Magyarország), 3. Bükköny 75/4 (Magyarország), 4. E1012 (Anglia). A vizsgálatokban fenti *Rhizobium* törzsek 10^6 sejt/ml inokulum (fiziológiás sóoldatban) szuszpenzióját használtuk, a méréseket a szaporodás logaritmikus stádiumában fejeztük be.

Táptalaj: élesztő-kivonat-mannit és húsleves agar (BAYOUMI HAMUDA, 1992).

A törzsek fenntartása: élesztő-kivonat-mannit agar + 3 g/l CaCO_3 .

Inkubációs hőmérséklet: 28 °C.

Alkalmazott módszerek: A törzsek szaporodásának meghatározásához mindegyik fungicid-koncentráció esetén az alábbi módszereket alkalmaztuk:

1. Korong módszer: petri-csészében 8 mm-es steril papírkorong a fent említett fungicid-koncentrációkkal átitatva. A gátlási zóna átmérőjét háromszoros ismétlésben 28 °C-os 48 órás inkubáció után határoztuk meg.

2. Lyuk technika: a fenti módszerhez hasonló, az ismert fungicid-koncentrációjú szuszpenziókat az agarba vágott lyukakba helyeztük.

3. Sávós módszer: STAPHORST & STRIJDOM (1976) szerint.

4. Folyékony kultúra: 5 ml folyékony YMA táptalajba az alkalmazott fungicid-koncentrációk 125 μl -ét mértük be. Az optikai denzitást 550 nm-en, rázatott kultúrából (150 fordulat/perc) 48 órás inkubáció után DR-2000 spektrofotométerrel határoztuk meg.

A mért adatokat statisztikailag értékeltük.

Eredmények

Összehasonlítva a folyékony és agar kultúrákban kapott eredményeket - a fungicidek hatása a négy *Rhizobium* törzs szaporodására - minden koncentrációban hasonló tendenciát észleltünk. Az eredmények alapján szaporodáscsökkenést tapasztaltunk a *Rhizobium* törzsek esetén, amikor a fungicidek koncentrációját növeltük. A folyékony kultúrákban a fungicidek hatását a négy tesztelt *Rhizobium* törzsre vonatkozóan a 2. táblázat mutatja. Megállapítottuk, hogy az E1012 törzs a legérzékenyebb, míg a Lóbab-Z törzs bizonyult a leg-tűrőképesebbeknek, e törzseket követte az érzékenységből a Bükköny 75/4 és a HB-3841 törzs. A fungicidek és a *Rhizobium* törzsek közötti interakciók alapján a Zineb-80, Baytan F, Agrocit, Maneb-80 kevésbé toxikusnak tűntek a vizsgált törzseknél, míg az Orthocide 50 WP volt a legtoxikusabb, melyet a Dithane DG, Panogen és Captan 50 W követett. A Cober, Ortho-phaltan, Plantvax, Mycozol, Cobox, Thiram, Terreneb, Benlate, Brassicol, Dithane M-45, Ipam,

2. táblázat
A fungicidek hatása a *Rhizobium leguminosarum* törzsek szaporodására
(a kontroll %-ában)

Fungicidek	Rhizobium törzsek							
	HB-3841		Lóbab-Z		Bükköny 75/4		E1012	
	Átlag	±	Átlag	±	Átlag	±	Átlag	±
Actidion	79,1	9,0	79,0	9,1	77,9	10,1	80,0	11,8
Agrocit	69,4	14,7	75,1	14,2	76,3	16,0	64,5	16,8
Baytan F	83,9	7,6	86,3	9,0	85,1	8,1	65,8	17,4
Benlate	74,9	14,3	55,3	13,8	65,8	13,3	62,1	16,4
Brassicol	59,0	23,4	71,6	17,3	67,4	18,5	63,4	21,0
Buvidice K	85,6	9,7	82,2	14,4	82,8	17,1	44,2	17,1
Captan 50 W	45,5	36,8	59,5	27,1	55,8	25,0	39,0	27,6
Cober	48,9	14,4	57,7	15,1	59,4	15,0	38,4	17,6
Cobox 50 WP	58,7	23,8	64,9	15,3	68,2	27,0	50,9	29,4
Dithane FL	71,2	11,9	71,4	14,5	72,6	16,0	62,8	23,9
Dithane DG	40,8	32,7	40,9	25,2	38,9	25,2	53,3	36,4
Dithane M-45	57,1	22,1	68,9	15,8	73,1	16,5	62,4	15,0
Ipam	66,3	10,8	60,7	15,4	78,1	12,6	66,3	15,7
Kolfugó 25 WP	75,7	14,7	89,8	9,7	76,9	13,0	74,9	13,1
Maneb-80	64,3	23,7	74,1	19,2	79,6	14,7	68,9	22,0
Mikál 75 WP	76,2	16,3	80,1	7,0	77,1	8,7	64,3	15,6
Mycozol	59,7	16,1	70,6	14,2	65,5	15,5	46,1	18,4
Orthocide 50 WP	27,5	28,0	55,5	34,6	48,0	16,9	32,8	34,6
Ortho-phaltan FL	35,1	35,4	77,1	9,8	44,0	16,2	48,5	39,7
Panogen ®	35,5	16,3	57,9	14,4	47,3	12,1	36,9	14,9
Plantvax 75 WP	42,0	18,9	56,4	17,3	63,2	17,6	48,7	20,5
Ronilan FL	75,1	16,7	82,6	12,0	76,9	15,1	70,6	18,2
Terreneb	62,4	21,1	65,5	16,3	70,7	15,2	52,3	17,3
Thiram	54,0	18,2	70,5	20,0	67,6	17,6	57,4	15,7
Zineb-80	80,8	13,2	81,8	13,1	78,7	13,2	86,1	11,3

SzD_{5%} = 17,937

Dithane FL mérsékelten hatott a tanulmányozott *Rhizobium* törzsek szaporodására. A négy *R. leguminosarum* törzs különböző módon reagált az eltérő fungicid-koncentrációkra. A körülbelüli minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározható volt minden esetben, figyelembe véve az egyes törzsek növekedési reakcióját (3. táblázat). A 4. táblázatban a kontroll százalékában tüntetük fel a fungicidek hatását.

3. táblázat
A legkisebb fungicid-koncentráció gátló hatása (MIC) a *Rhizobium leguminosarum* törzsek szaporodására

Fungicidek	MIC, mg/l			
	<i>Rhizobium</i> törzsek			
	HB-3841	Lóbab-Z	Bükköny 75/4	E1012
Actidion	> 100	> 100	> 100	> 100
Agrocit	> 100	> 100	> 100	100
Baytan F	> 100	> 100	> 100	100
Benlate	> 10	10	> 10	> 1
Brassicol	> 1	> 10	> 10	> 1
Buvidide K	> 100	> 100	> 10	> 1
Captan 50 W	> 1	10	> 10	> 1
Cober	> 0,1	> 1	> 1	> 0,1
Cobox 50 WP	> 1	> 10	> 10	> 1
Dithane FL	> 10	> 10	> 10	> 10
Dithane DG	> 1	> 0,1	> 0,1	> 1
Dithane M-45	> 1	> 10	> 10	> 1
Ipam	> 10	> 1	> 100	> 10
Kolfugó 25 WP	> 10	> 100	> 10	> 10
Maneb-80	> 10	> 100	> 100	> 100
Mikál 75 WP	> 10	> 100	> 100	> 1
Mycozol	> 1	> 10	> 1	> 1
Orthocide 50 WP	> 1	> 1	> 0,1	> 0,1
Ortho-phaltan FL	> 1	> 100	> 0,1	> 1
Panogen ®	> 0,1	> 1	> 0,1	> 0,1
Plantvax 75 WP	> 0,1	> 1	> 1	> 0,1
Ronilan FL	> 10	> 100	> 10	> 10
Terreneb	10	10	> 10	> 1
Thiram	> 1	> 1	> 10	> 1
Zineb-80	> 100	> 100	> 100	> 100

Az eredmények megvitatása

A tanulmányozott *R. leguminosarum* törzsek életképessége a fungicidek hatására a legtöbb esetben csökkent, de képesek túlélni a vizsgált gombaölő szerek közepes koncentrációit, sőt esetenként egészen nagy koncentrációit, kivéve az olyan erősen toxikus fungicidet, mint az Orthocide 50 WP. Figyelemre méltó eredmény a különböző módszerek által elért adatok hasonlósága. Az eredmények részleges magyarázatot adtak laboratóriumi körülmények között a *Rhizobium* törzsek és a fungicidek kompatibilitásával kapcsolatban. Mivel a fungicidek gyakran hatásukat tekintve nem specifikusak, szükségszerű ismernünk ezeknek a vegyszereknek a gyökérgümők képződésére, az N₂-kötésre kifejtett hatását, és bizonyos óvatossággal kell eljárni a kémiaiailag kezelt magvak inoku-

4. táblázat
A fungicidek gátló hatásának átlaga a *Rhizobium leguminosarum* törzsek szaporodására (a kontroll %-ában)

Fungicidek	Átlagos gátló hatás	Fungicidek	Átlagos gátló hatás
Actidion	79,0 ± 0,8	Kolfugó 25 WP	79,3 ± 6,1
Agrocit	71,3 ± 4,7	Maneb-80	71,7 ± 5,7
Baytan F	80,3 ± 8,4	Mikál 75 WP	74,4 ± 6,0
Benlate	64,5 ± 7,1	Mycozol	60,5 ± 9,2
Brassicol	65,4 ± 4,7	Orthocide 50 WP	42,0 ± 11,3
Buvidice K	73,7 ± 17,1	Ortho-phaltan FL	51,2 ± 15,7
Captan 50 W	50,0 ± 8,1	Panogen ®	44,4 ± 9,0
Cober	51,1 ± 8,4	Plantvax 75 WP	52,6 ± 8,0
Cobox 50 WP	60,7 ± 6,6	Ronilan FL	76,3 ± 4,3
Dithane FL	69,5 ± 3,9	Terreneb	62,7 ± 6,7
Dithane DG	43,5 ± 5,7	Thiram	62,4 ± 6,9
Dithane M-45	65,5 ± 6,0	Zineb-80	81,9 ± 2,7
Ipam	67,9 ± 6,3		

SzD_{5%} = 7,176

lációjakor. Eredményeinket több kutató korábbi munkája is alátámasztja, így pl. AFIFI és munkatársai (1969) kis koncentrációnál (0,03 ppm) mérgezőnek találta a Captant és a Thiramot néhány, de nem minden *Rhizobium* törzs esetében, jól-lehet 300-3000 ppm közötti koncentrációnál a legtöbb törzs szaporodására gátló volt. Megállapításunk a Captanra vonatkozóan, hogy a törzsek szaporodása erősen gátolt volt 10 mg/l-nél, mindamellett a Thiram mérsékelten gátolta a rhizobiumok szaporodását 100 mg/l esetében.

GILLBERG (1971) említi, hogy a *R. leguminosarum* érzékeny a Captan magasabb dózisaira és 50 ppm már gátolja a szaporodást, amit KECSKÉS & VINCENT (1969), valamint további vizsgálataink is alátámasztanak, valamint azt a tényt is (KECSKÉS & VINCENT, 1973), miszerint a rézoxiklorid kevésbé mérgező hatású a *R. leguminosarum*-ra, mint a Cersan. Adataink FAIZAH és munkatársai (1980) fungicidek rhizobium gátló hatására vonatkozó eredményeit megerősítik. Nem volt jelentős különbség a tesztelt törzsek szaporodása között, amikor a kultúrákat PCNB-vel kezeltük, és ez megegyezik PILLAI & NAIR (1982) megállapításaival, akik nem találtak különbséget - hatás tekintetében - a két PCNB-vel kezelt *Rhizobium* törzs szaporodása között. A PCNB nagy koncentrációja a rhizobiumok két törzsére volt mérgező. FISHER & CLIFFON (1976) azt találta, hogy a Benomyl 200 ppm koncentrációja kevésbé hatott az agar táptalajon szaporított különböző *R. leguminosarum* törzsekre. HAMED & SALEM (1970) szerint a Dithane gátló hatással van a *R. leguminosarum* szaporodására.

STAPHORST & STRIJDOM (1976) 13 fungicid hatását vizsgálták *in vitro* és megállapították, hogy a rhizobiumokra nézve a Thiram, a Mancozeb és a Maneb 80 a legtoxikusabb. BACKMAN (1979) kimutatta, hogy a rhizobium túlélése a gombaölő szerekkel kapcsolatban a fajták és az alkalmazott dózisok függvénye. A különböző kísérleti módszerekkel kapott eredmények bizonyítják, hogy a törzsek túlélése genetikai (tolerancia/rezisztencia vagy érzékenység), vagy öko-fiziológiai adaptáció függvénye. Összegezve a tapasztalatainkat, megállapíthatjuk azt, hogy a kapott kísérleti eredmények a fungicidek és a *R. leguminosarum* interakcióját tekintve felhasználhatók a pillangós növények szabadföldi termesztésében.

Összefoglalás

Különböző módszerekkel (lemez-, lyuk-, csíkteszt, mikrofermentor technika) tanulmányoztuk huszonöt talajfungicid öt koncentrációjának (0; 0,1; 1,0; 10,0 és 100,0 mg/l) hatását négy különböző talajtípusból izolált *R. leguminosarum* törzsrre. A különböző módszerek által kapott eredményeket összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a fungicidek hatása általában a vizsgált *Rhizobium* törzsekre hasonló volt. A növekedés-gátlás foka minden egyes fungicid vizsgált koncentrációjánál ugyanazt a tendenciát mutatta, hasonlóan a spektrofotométerrel mért adatokhoz. A Lóbab-Z törzs (magyarországi talajból izolált) tág tűrésűnek bizonyult a legtöbb vizsgált fungiciddel szemben, ellentétben a Bükköny 75/4 (magyar) és HB-3841 (líbiai) törzsekkel. Az E1012 törzs (angol eredetű) volt a legérzékenyebb. A Zineb-80, a Baytan, az Agrocit és a Maneb-80 bizonyult a legkevésbé mérgezőnek, az Orthocid 80 WP volt a legtoxikusabb, ezt követte a Dithane DG, a Panogen és a Captan. A Cober, Ortho-phaltan FL, Plantvax 75 WP, Mycozol, Cobox, Thiram, Terreneb, Benlate, Brassicol, Dithane M-45, Ipam, és a Dithane FL mérsékelten befolyásolták a törzsek túlélését, szaporodását.

Irodalom

- AFIFI, A. F. et al., 1969. Sensitivity of *Rhizobium* species to certain fungicides. Arch. Mikrobiol. 66. 121-128.
- BACKMAN, P. A., 1979. Fungicide formulation: Relationship to biological activity. Auburn Univ. Agric. Exp. Sta. Highlights of Agric. Res. 24.
- BAYOUMI HAMUDA, H. E. A. F., 1987. Pesticide and antibiotic sensitivity of *Rhizobium leguminosarum* strains. Univ. Doctor's Thesis. Gödöllő Univ. of Agric. Sci., Hungary.
- BAYOUMI HAMUDA, H. E. A. F., 1992. Factors influencing the optimalization of *Rhizobium leguminosarum* and *Vicia faba* symbiosis. Cand. Biol. Sci. Dissertation. Hungarian Academy of Sciences. Budapest.

- BAYOUMI HAMUDA, H. E. A. F., TIMÁRI, S. & KECSKÉS, M., 1988. Side-effect of different pesticides on *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* strains. *Acta Microbiol. Hung.* 35. 161.
- CURLEY, R. L. & BURTON, J. C., 1975. Compatibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. *Agron. J.* 67. 808-808.
- DIATLOFF, A., 1970a. The effects of some pesticides on root-nodule bacteria and subsequent nodulation. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 10. 562-567.
- DIATLOFF, A. 1970b. Overcoming fungicide toxicity to *Rhizobium* by insulating with polyvinyl acetate layer. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 36. 293-294.
- FAIZAH, A. W., BROUGHTON, W. J. & JOHN, C. K., 1980. Rhizobia in tropical legumes XI. Survival in the seed environment. *Soil Biol. Biochem.* 12. 219-227.
- FAWAZ, K. M., ABDEL-GHAFFAR, A. S. & EL-GABALY, M. M., 1972. Sensitivity of root-nodule bacteria to different seed protectants. *Symp. Biol. Hung.* 11. 417-422.
- FISHER, D. J., 1976. Effects of some fungicides on *Rhizobium trifolii* and its symbiotic relationship with white clover. *Pest. Sci.* 7. 10-18.
- FISHER, D. J. & CLIFTON, G., 1976. Effect of fungicides on *Rhizobium*. Long Ashton Res. Sta. Univ. Bristol. Rep.
- GILLBERG, B. G., 1971. On the effect of some pesticides on *Rhizobium* and isolation of pesticide-resistant mutants. *Arch. Mikrobiol.* 75. 203-208.
- HAMED, A. S. & SALEM, S. H., 1977. Effect of some pesticides on the growth of *Rhizobium leguminosarum* in liquid culture media. In: *Soil Biology and Conservation of the Biosphere*. (Ed.: SZEGI, J.) 103. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- HEINONEN-TANSKI, H. & TURKKI, M., 1987. The improvement of fungicide-tolerance in *Rhizobium leguminosarum* strain. *Proc. 9th Int. Symp. on Soil Biology and Conservation of the Biosphere*. (Ed.: SZEGI, J.). 373-378. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- KECSKÉS, M., 1970. Comparative investigations of the action of fungicides on *Rhizobium leguminosarum* Frank and its symbiosis with *Vicia sativa* L. *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent.* 35. 505-514.
- KECSKÉS, M. & VINCENT, J. M., 1969. The effect of fungicides on *Rhizobium leguminosarum* species. I. Laboratory investigations. *Agrokémia és Talajtan.* 18. 57-70.
- KECSKÉS, M. & VINCENT, J. M., 1973. Compatibility of fungicide treatment and *Rhizobium* inoculation of vetch seed. *Acta Agron. Hung.* 22. 249-263.
- NIRMAL, D. D., BHAGWAT, V. Y. & GANACHARYA, N. M., 1977. Effect of some fungicides on *Rhizobium* sp. nodulating gram (*Cicer arietinum*) and *Azotobacter chroococcum*. *J. Maharstra Agric. Univ.* 2. 186.
- ODEYEMI, O. & ALEXANDER, M., 1977. Resistance of *Rhizobium* strains to phygon, spergon, and thiram. *Appl. Environ. Microbiol.* 33. 784-790.
- PILLAI, M. V. R. & NAIR, S. K., 1982. Effect of different doses of thiride and PCNB on nodulation and N_2 -fixation in green gram. *Proc. Natl. Symp. on Biol. N_2 -fixation.* IARI. New Delhi.
- STAPHORST, J. L. & STRIJDOM, B. W., 1976. Effects on rhizobia of fungicides applied to legume seed. *Phytopathol.* 8. 47-54.
- VINCENT, J. M., 1974. Nodule symbiosis with *Rhizobium*. In: *The Biology of N_2 -fixation*. (Ed.: QUISPÉL, A.) 265-345. North Holland Publ. Co. Amsterdam.